



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

ESTUDO DA ATIVIDADE DA POLIGALACTURONASE DE *XYLELLA FASTIDIOSA* CAUSADORA DA CVC E SEU IMPACTO NA INTERAÇÃO COM O HOSPEDEIRO

Natália Storti **Rodrigues**¹; Marcus Vinícius **Merfa**²; Paula Maria Moreira **Martins**³; Alessandra Alves
de Souza⁴

Nº 16133

RESUMO – *Xylella fastidiosa* (Xf) é uma bactéria fitopatogênica que coloniza o xilema de diversas plantas cultivadas de importância econômica. No Brasil, a Xf está associada à clorose variegada do citros (CVC) que é responsável por grandes perdas na citricultura. Com o sequenciamento do genoma de isolados de Xf provenientes de diferentes hospedeiros, análises comparativas entre eles possibilitaram observar que a estirpe 9a5c, isolada da laranjeira (Xf-CVC), e a estirpe norte-americana Temécula1 (Xf-PD), agente causal da Doença de Pierce (PD), compartilham cerca de 98% de seus genes. Um gene compartilhado por ambas é o gene *pglA*, precursor de poligalacturonase (*pglA*) a qual degrada a pectina presente na parede celular vegetal. Apesar de presente em ambas Xf-CVC e Xf-PD, o gene de Xf-CVC apresenta um frameshift que antecipa o códon de parada da tradução, podendo gerar uma proteína não funcional. A análise dos domínios conservados sugere que a proteína produzida por Xf-CVC tem de fato o domínio catalítico (“Pgu1”) interrompido por um códon de parada. Para avaliação funcional destas proteínas, foi realizada a clonagem do gene completo de *pglA* de ambas estirpes para a expressão heteróloga em *E. coli*. A análise por SDS-PAGE confirmou que o gene *pglA* da estirpe Temécula1 produz uma proteína PglA com o tamanho esperado para uma proteína completa, enquanto que o gene *pglA* da estirpe 9a5c produz uma proteína recombinante de tamanho menor, demonstrando que, pelo menos em *E. coli*, o frameshift não é corrigido pelos ribossomos, dando origem a uma proteína interrompida e possivelmente não-funcional de poligalacturonase.

Palavras-chaves: frameshift, expressão heteróloga, Temécula1, 9a5c

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Biotecnologia, UFSCar, Araras-SP; rodriguesnr@gmail.com.

2 Colaborador, Bolsista DTI-2 CNPq, Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Cordeirópolis-SP.

3 Colaborador, Pós Graduanda no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Cordeirópolis-SP.

4 Orientador, Pesquisador do Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Cordeirópolis-SP; alessandra@centrodecitricultura.br.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

ABSTRACT – *Xylella fastidiosa* (Xf) is a phytopathogenic bacterium that colonizes the xylem of many cultivated plants worldwide. In Brazil, it is associated with Citrus Variegated Chlorosis (CVC), an economically important disease for the citrus industry. Strains of Xf isolated from different hosts had their genome sequenced and comparative analyses demonstrated that the 9a5c (Xf-CVC) and the Temecula1 (Xf-PD) strains, respectively isolated from citrus and grapevine, share approximately 98% of their genes. Among them there is a polygalacturonase (pglA) precursor, which is responsible for degrading the pectin of host cell wall. However, despite both strains have the pglA gene, Xf-CVC has a frameshift that presumably renders the translated protein nonfunctional. Analyses using the Conserved Domains Database showed that the CVC-causing strain has indeed the polygalacturonase domain (“Pgu1”) interrupted by an early stop codon, possibly rendering this strain unable to degrade cell wall. Further, the heterologous expression of these proteins, analyzed by SDS-PAGE, confirmed that the protein from Xf-PD has the expected size for the fully functional PglA protein, while *E. coli* producing PglA from Xf-CVC produced a smaller protein. It shows that, at least in *E. coli*, the frameshift is not repaired by ribosomes during translation, which may result in a nonfunctional protein.

Keywords: frameshift, heterologous expression, Temecula1, 9a5c